

# La semaglutida, análogo del péptido similar al glucagón-1 (GLP-1), reduce el consumo de alcohol y modula la neurotransmisión central GABA.

Vicky Chuong,<sup>1,2</sup>Mehdi Farokhnia,<sup>1</sup>Sofía Khom,<sup>3,4</sup>Claire L. Pince,<sup>1,2</sup>Sophie K. Elvig,<sup>2</sup>  
Roman Vlkolinsky,<sup>3</sup>Renata CN Marchette,<sup>2</sup>George F. Koob,<sup>2</sup>Marisa Roberto,<sup>3</sup>  
Leandro F. Vendruscolo,<sup>5</sup>y lorenzo leggio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sección de Psiconeuroendocrinología Clínica y Neuropsicofarmacología, Subdivisión de Medicina Traslacional de Adicciones, Programa de Investigación Intramuros del Instituto Nacional sobre el Abuso de Drogas (NIDA IRP) y División de Investigación Biológica y Clínica Intramuros del Instituto Nacional sobre Abuso de Alcohol y Alcoholismo (NIAAA DICBR), NIH, Baltimore y Bethesda, Maryland, EE.UU.<sup>2</sup> Sección de Neurobiología de las Adicciones, NIDA IRP, NIH, Baltimore, Maryland, EE. UU.<sup>3</sup>Departamento de Medicina Molecular, Instituto de Investigación Scripps, La Jolla, California, EE. UU.<sup>4</sup>Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Viena, Viena, Austria.<sup>5</sup> Unidad de Neurociencia de Estrés y Adicciones, NIDA IRP y División de Investigación Biológica y Clínica Intramuros del Instituto Nacional sobre Abuso de Alcohol y Alcoholismo, Institutos Nacionales de Salud, Baltimore, Maryland, EE. UU.

Cada vez hay más pruebas que indican que el sistema del péptido 1 similar al glucagón (GLP-1) está implicado en la neurobiología de las conductas adictivas, y los análogos del GLP-1 pueden utilizarse para el tratamiento del trastorno por consumo de alcohol (AUD). Aquí, examinamos los efectos de la semaglutida, un análogo del GLP-1 de acción prolongada, sobre los correlatos bioconductuales del consumo de alcohol en roedores. Se utilizó un procedimiento de beber en la oscuridad para probar los efectos de la semaglutida en el consumo excesivo de alcohol en ratones machos y hembras. También probamos los efectos de la semaglutida sobre el consumo excesivo de alcohol inducido por dependencia en ratas macho y hembra, así como los efectos agudos de la semaglutida sobre las corrientes postsinápticas inhibitorias espontáneas (sIPSC) de la amígdala central (CeA) y la corteza infralímbica (ILC). neuronas. La semaglutida redujo de forma dependiente de la dosis el consumo excesivo de alcohol en ratones; Se observó un efecto similar en la ingesta de otras soluciones calóricas/no calóricas. La semaglutida también redujo el consumo excesivo de alcohol y el consumo de alcohol inducido por dependencia en ratas. La semaglutida aumentó la frecuencia de sIPSC en las neuronas CeA e ILC de ratas que nunca habían bebido alcohol, lo que sugiere una mayor liberación de GABA, pero no tuvo ningún efecto general sobre la transmisión de GABA en ratas dependientes del alcohol. En conclusión, el análogo de GLP-1, semaglutida, disminuyó la ingesta de alcohol en diferentes modelos y especies de consumo de alcohol y moduló la neurotransmisión central GABA, lo que respalda las pruebas clínicas de semaglutida como una farmacoterapia potencialmente novedosa para el AUD.

**Nota de autoría:**VC, MF y SK contribuyeron igualmente a este trabajo y comparten la primera autoría. MR, LFV y LL supervisaron conjuntamente este trabajo y comparten la autoría principal.

**Conflicto de intereses:**Los autores han declarado que no existe ningún conflicto de intereses.

**Derechos de autor:**© 2023, Chuong et al. Este es un artículo de acceso abierto publicado bajo los términos de la Licencia Internacional Creative Commons Attribution 4.0.

**Enviado:**20 de marzo de 2023

**Aceptado:**10 de mayo de 2023

**Publicado:**22 de junio de 2023

**Información de referencia:***Perspectiva de la*  
JCI. 2023;8(12):e170671.  
<https://doi.org/10.1172/jci.vision.170671>.

## Introducción

El trastorno por consumo de alcohol (AUD) es un trastorno crónico y recurrente y una de las principales causas de muerte evitable en todo el mundo. A pesar de la alta morbilidad y mortalidad asociadas con el AUD, sólo existen unas pocas farmacoterapias efectivas aprobadas y están infrautilizadas. Por lo tanto, existe una necesidad crítica de identificar y desarrollar medicamentos adicionales para el AUD (1). Cada vez hay más pruebas que indican mecanismos neurobiológicos superpuestos que subyacen a la conducta patológica de comer en exceso y a las conductas adictivas (2, 3). En consecuencia, se están investigando sistemas que controlan el apetito y la alimentación como posibles objetivos farmacoterapéuticos para el AUD (4, 5). Uno de esos objetivos es el péptido 1 similar al glucagón (GLP-1), una hormona incretina y un neuropéptido implicado en la regulación del apetito, la ingesta de alimentos y el metabolismo (6).

El GLP-1 es un péptido de 30 aminoácidos producido por la escisión del preproglucagón en las células L endocrinas intestinales y en las neuronas del núcleo del tracto solitario (NTS) (7-9). El GLP-1 ejerce efectos insulinoatrópicos en estados hiperglucémicos y disminuye la ingesta de alimentos a través de mecanismos centrales y periféricos (10, 11). La creciente evidencia también sugiere que el GLP-1 modula el estrés, el estado de ánimo, la cognición y el procesamiento de recompensas (12-16). Se ha demostrado que la administración del propio GLP-1 o de análogos de GLP-1 en roedores reduce los efectos gratificantes de

drogas adictivas, incluidos estimulantes, opioides, nicotina y alcohol (6, 17). Los receptores GLP-1 acoplados a la proteína G (GLP-1R) se expresan ampliamente en órganos periféricos como el páncreas, el hígado y el tracto gastrointestinal, así como en regiones del cerebro involucradas en conductas apetitivas y de recompensa, como el hipotálamo, el núcleo accumbens y el ventral. área tegmental (18-21). Los GLP-1R también se expresan altamente en el núcleo central de la amígdala (CeA) y la corteza infralímbica (ILC) (22, 23). La expresión de GLP-1R en estas regiones cerebrales clave relacionadas con la recompensa y el estrés puede contribuir a la búsqueda y el consumo de alimentos (24-27) y alcohol (28-30). Es de destacar que la transmisión GABAérgica está elevada en el CeA después de una exposición aguda y crónica al alcohol, lo que representa neuroadaptaciones críticas en la transición a la dependencia (28, 31-33). Además, la señalización glutamatérgica y GABAérgica en la ILC contribuye al control inhibitorio sobre la búsqueda de alcohol y la recaída (29, 34-37). Aunque se ha demostrado que la estimulación de GLP-1R modula la señalización GABAérgica en el hipocampo y NTS (38-40), se desconocen los efectos del agonismo de GLP-1R en las sinapsis GABAérgicas en CeA e ILC, especialmente en el contexto del consumo de alcohol.

Debido a que el GLP-1 tiene una vida media corta de aproximadamente 2 minutos, se han desarrollado análogos de GLP-1 con vidas medias más largas y ahora se usan ampliamente para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad (41-43). Estudios anteriores muestran que la administración de análogos de GLP-1, incluida exenatida (exendina-4), dulaglutida y liraglutida en ratones, ratas y primates no humanos, suprimió los resultados relacionados con la recompensa del alcohol, incluida la liberación de dopamina inducida por el alcohol en el núcleo accumbens, preferencia de lugar condicionada por el alcohol y autoadministración de alcohol (6, 17). Recientemente probamos los efectos de dos análogos de GLP-1 de acción prolongada, liraglutida y semaglutida en ratas Wistar macho y descubrimos que ambos fármacos redujeron la ingesta voluntaria de alcohol en una prueba de elección de dos botellas de acceso intermitente. A diferencia de la liraglutida, la semaglutida también redujo la preferencia por el alcohol sin reducir la ingesta de agua (44). En comparación con otros análogos selectivos de GLP-1, la semaglutida es más potente y tiene mayor afinidad por el GLP-1R, lo que da como resultado una mayor pérdida de peso y propiedades reductoras de la glucosa (45-47). La larga vida media de la semaglutida (aproximadamente 7,5 horas en ratones, 12 horas en ratas y 183 horas en humanos) la hace adecuada para su administración una vez a la semana en humanos (43, 48-50). Además de la formulación sc, la semaglutida es actualmente el único análogo selectivo del GLP-1 con una formulación oral aprobada por la FDA (51). Estos factores hacen de la semaglutida un análogo de GLP-1 ideal para la traducción clínica en personas con AUD. Sin embargo, se necesita información adicional sobre si la semaglutida puede influir en los correlatos bioconductuales del consumo de alcohol y la dependencia, y de qué manera.

En el presente estudio, examinamos diferentes dosis de semaglutida en un procedimiento de consumo excesivo de alcohol en ratones, un procedimiento de consumo excesivo de alcohol en ratas y un modelo de dependencia en ratas. Para investigar la especificidad (o falta) del efecto de la semaglutida en la reducción de la ingesta de alcohol, también probamos los efectos de la semaglutida sobre la locomoción, la coordinación motora, los niveles de alcohol en sangre (BAL) y el consumo de otras soluciones que no contienen alcohol. Finalmente, se realizaron registros electrofisiológicos en CeA e ILC de ratas que no habían consumido alcohol y dependientes del alcohol para evaluar los efectos de una aplicación aguda de semaglutida en la transmisión sináptica mediada por el receptor GABA. Presumimos que la semaglutida disminuiría el consumo de alcohol y soluciones calóricas/palatables, sin cambiar el consumo de soluciones no calóricas, la locomoción espontánea, la coordinación motora y los BAL. También planteamos la hipótesis de que la semaglutida normalizaría la desregulación inducida por el alcohol en la neurotransmisión central GABA.

## Resultados

*Efectos de la semaglutida sobre el consumo de soluciones alcohólicas dulces y no dulces y de una solución dulce que no contiene alcohol.*

Para los ratones que beben alcohol endulzado (dulce), un efecto principal de Dose ( $F_{5,65} = 51,81, PAG < 0,0001$ ) fue encontrado; semaglutida en todas las dosis ( $PAG < 0,0001$ ), en comparación con el vehículo, consumo reducido. No hubo ningún efecto principal de la interacción Sexo o Dosis  $\times$  Sexo. Los datos masculinos y femeninos se combinaron para la visualización, pero los puntos de datos individuales se representan mediante símbolos específicos de sexo (Figura 1A).

Para los ratones que beben alcohol sin azúcar (sin azúcar), un efecto principal de Dose ( $F_{5,70} = 9,12, PAG < 0,0001$ ) fue encontrado; semaglutida a 0,003 mg/kg ( $PAG = 0,05$ ), 0,01 mg/kg ( $PAG = 0,0007$ ), 0,03 mg/kg ( $PAG < 0,0001$ ) y 0,1 mg/kg ( $PAG < 0,0001$ ), en comparación con el vehículo, consumo reducido. Un efecto principal del sexo ( $F_{1,14} = 7,66, PAG = 0,02$ ; hembra  $>$  macho), pero también se observó ninguna interacción dosis  $\times$  sexo (Figura 1B).

Para los ratones que beben una solución calórica dulce que no contiene alcohol (glucosa + sacarina), un efecto principal de Dose ( $F_{5,65} = 5,53, PAG = 0,0003$ ); semaglutida a 0,003 mg/kg ( $PAG = 0,021$ ), 0,01 mg/kg ( $PAG = 0,001$ ), 0,03 mg/kg ( $PAG = 0,002$ ) y 0,1 mg/kg ( $PAG = 0,0007$ ), en comparación con el vehículo, consumo reducido. No hubo ningún efecto principal de la interacción Sexo o Dosis  $\times$  Sexo (Figura 1C).

*Efectos de la semaglutida sobre el consumo de otras soluciones para beber y la ingesta de comida/agua en ratones.* Para los ratones que beben agua, un efecto principal de Dose ( $F_{5,35} = 18,64, PAG < 0,0001$ ); semaglutida en absoluto dosis ( $PAG < 0,0001$ ), en comparación con el vehículo, consumo reducido (Figura 2A). Para los ratones que beben una solución dulce no calórica (sacarina), un efecto principal de Dose ( $F_{5,35} = 18,02, PAG < 0,0001$ ); semaglutida a 0,01 mg/kg ( $PAG = 0,005$ ), 0,03 mg/kg ( $PAG = 0,002$ ) y 0,1 mg/kg ( $PAG = 0,003$ ), en comparación con el vehículo, consumo reducido (Figura 2B).

Para los ratones que beben soluciones calóricas, ya sea una solución de carbohidratos no dulces (maltodextrina) o una emulsión de grasas no dulces (aceite de maíz), un efecto principal de Dose (maltodextrina):  $F_{5,35} = 57,14, PAG < 0,0001$ ; maíz aceite:  $F_{5,35} = 78,43, PAG < 0,0001$ ; semaglutida en todas las dosis ( $PAG < 0,001$ ), en comparación con el vehículo, ingesta reducida (Figura 2, C y D).

Se examinó la ingesta de comida y agua en ratones que previamente bebían alcohol sin azúcar. Para la ingesta de comida, un efecto principal de la dosis ( $F_{5,70} = 36,7, PAG < 0,0001$ ); semaglutida en todas las dosis ( $PAG < 0,0001$ ) excepto 0,001 mg/kg, en comparación con el vehículo, reducción del consumo de alimento. Para la ingesta de agua, un efecto principal de la dosis ( $F_{5,70} = 23,91, PAG < 0,0001$ ); semaglutida en todas las dosis ( $PAG < 0,001$ ), en comparación con vehículo, ingesta reducida de agua (Tabla complementaria 1; material complementario disponible en línea con este artículo; <https://doi.org/10.1172/jci.insight.170671DS1>).

*Efectos de la semaglutida sobre la coordinación motora y los BAL en ratones.* Se probaron ratones tratados con solución salina en el rotarod para determinar si la semaglutida per se afecta la coordinación motora (condición salina; Figura 1A complementaria). Aunque un efecto de dosis significativo ( $F_{2,64} = 10,96, PAG < 0,0001$ ; 0,01 mg/kg < 0 y 0,1 mg/kg) Se encontró que la semaglutida no cambió la coordinación motora, en comparación con el valor inicial (es decir, sin interacción dosis × tiempo). El efecto principal del tiempo no fue significativo.

También evaluamos los efectos de la semaglutida sobre la ataxia inducida por el alcohol (Figura 1B complementaria). Un efecto principal del tiempo ( $F_{5,195} = 187,0, PAG < 0,0001$ ), lo que indica que el alcohol induce alteraciones motoras. dinación, y este efecto mejoró con el tiempo. Sin embargo, no se mostró interacción entre dosis o dosis × tiempo, lo que indica que la semaglutida no influyó en la ataxia inducida por el alcohol.

Se extrajo sangre 30 minutos y 90 minutos después de la inyección de alcohol, inmediatamente después de la prueba con rotarod, para medir los BAL (Figura 1C complementaria). Un efecto principal del tiempo ( $F_{1,39} = 231,9, PAG < 0,0001$ ), lo que indica que los BAL eran más bajos a los 90 minutos que a los 30 minutos. Aunque la interacción dosis × tiempo fue significativa ( $F_{2,39} = 94,5, PAG = 0,02$ ), la comparación post hoc no mostró diferencias. El efecto principal de Dose no fue significativo.

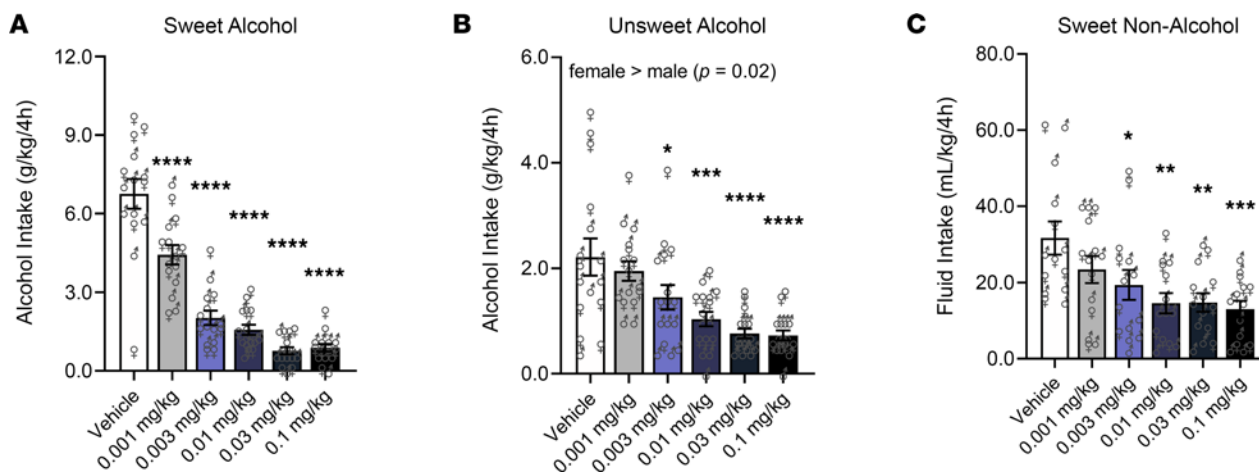
Los efectos de la semaglutida sobre la locomoción espontánea en ratones se evaluaron midiendo la distancia recorrida en la prueba del corredor circular (Figura 1D complementaria). Un efecto principal de la dosis ( $F_{2,14} = 37,37, PAG < 0,0001$ ); semaglutida a 0,1 mg/kg ( $PAG < 0,0001$ ), en comparación con el vehículo, disminución de la locomoción.

*Efectos de la semaglutida sobre la autoadministración de alcohol y agua en ratas.* En ratas no dependientes, un efecto principal de la dosis ( $F_{5,34} = 52,11, PAG < 0,0001$ ), pero no se encontró ningún efecto de Sexo o Dosis × Interacción Sexual para el consumo de bebidas alcohólicas tipo atracán. En comparación con el vehículo, semaglutida en todas las dosis (0,001 mg/kg,  $PAG < 0,01$ ; 0,01 mg/kg,  $PAG < 0,0001$ ; 0,1 mg/kg,  $PAG < 0,0001$ ) redujo la autoadministración de la solución de alcohol dulce (Figura 3A). Para la autoadministración de agua, un efecto principal de Dose ( $F_{3,54} = 3,95, PAG = 0,01$ ; las comparaciones post hoc no indicaron diferencias significativas) y Sexo ( $F_{1,18} = 9,33, PAG = 0,007$ ; mujer > hombre), pero sin interacción dosis × sexo, fue encontrado (Figura 3B).

En ratas dependientes del alcohol, un efecto principal de la dosis ( $F_{3,60} = 11,24, PAG < 0,0001$ ), pero ningún efecto del sexo o Se encontró interacción dosis × sexo para el consumo de alcohol inducido por dependencia. En comparación con el vehículo, semaglutida a 0,1 mg/kg ( $PAG = 0,0007$ ) redujo la autoadministración de la solución de alcohol sin azúcar (Figura 3C). Para la autoadministración de agua, un efecto principal de Sex ( $F_{1,20} = 6,91, PAG = 0,01$ ; masculino > femenino), pero no se encontró ningún efecto de la interacción Dosis o Dosis × Sexo (Figura 3D).

*Efectos de la semaglutida sobre la locomoción espontánea en ratas dependientes.* La distancia recorrida en campo abierto no fue significativamente diferente con semaglutida ( $14,26 \pm 7,9$  m) y vehículo ( $15,26 \pm 2,0$  m).

*Efectos de la exposición al vapor de alcohol sobre la neurotransmisión inhibitoria en CeA e ILC.* Como se muestra en la Figura complementaria 2, A – C y en la Tabla complementaria 2A, y de acuerdo con nuestro trabajo anterior (31–33), la exposición al vapor de alcohol elevó significativamente la neurotransmisión mediada por el receptor GABA en la subdivisión medial del CeA, como lo indica Aumento significativo de las frecuencias de la corriente postsináptica inhibitoria espontánea (sIPSC) ( $t = 2,94, df = 31, PAG = 0,006$ ) en ratas dependientes del alcohol, en comparación con ratas que no habían consumido alcohol previamente. Otras características de sIPSC, como amplitudes, tiempo de subida y tiempo de caída, no difirieron entre los 2 grupos.



**Figura 1. La semaglutida reduce el consumo excesivo de alcohol en ratones.**(A) La semaglutida redujo la ingesta de alcohol (g/kg de peso corporal) en ratones que bebían alcohol dulce. Machos (*norte*=8); hembras (*norte*=7). (B) La semaglutida redujo la ingesta de alcohol (g/kg de peso corporal) en ratones que bebían alcohol sin azúcar; Los ratones hembra bebieron significativamente más alcohol que los machos. Machos (*norte*=8); hembras (*norte*=8). (C) La semaglutida redujo la ingesta de líquidos (mL/kg de peso corporal) en ratones que bebieron una solución dulce que no contenía alcohol. Machos (*norte*=8); hembras (*norte*=6). Se utilizaron cohortes separadas de ratones para probar los efectos de la semaglutida en el consumo de cada solución para beber. Los datos se expresan como media  $\pm$  SEM y se analizaron mediante ANOVA de medidas repetidas de 2 vías. \**PAG*<0,05, \*\**PAG*<0,01, \*\*\**PAG*<0,001, \*\*\*\**PAG*<0,0001 frente al vehículo. Los valores individuales se presentan para los hombres (♂) y hembras (♀).

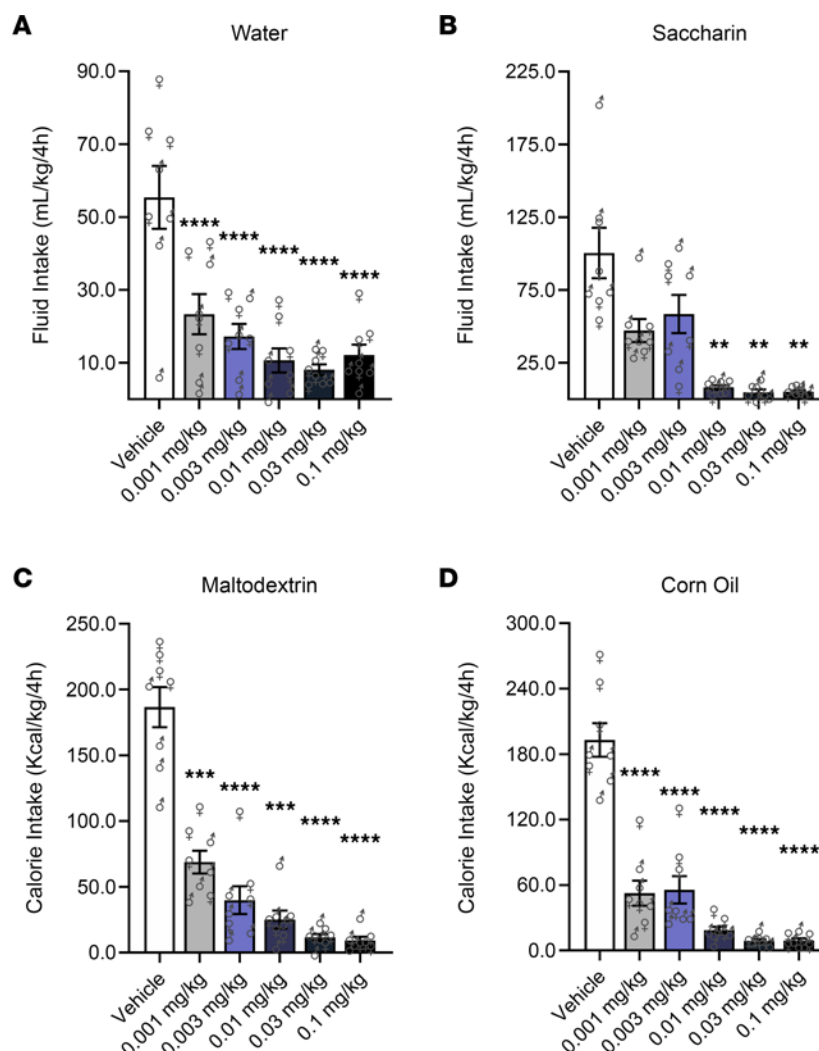
Como se muestra en la Figura 2 complementaria, D – F y en la Tabla 2B complementaria, la exposición al vapor de alcohol también elevó significativamente la neurotransmisión mediada por el receptor GABA en las neuronas piramidales ubicadas en la capa 5 de la ILC. Específicamente, el aumento de frecuencias ( $t=2.08$ ,  $df=24$ , *PAG*=0,04) y amplitudes ( $t=3.19$ ,  $df=24$ , *PAG*=0,003) de sIPSC en neuronas ILC se encontraron en ratas dependientes del alcohol, en comparación con ratas que no habían consumido alcohol. La cinética de sIPSC (es decir, los tiempos de subida y bajada de corriente) no difirieron entre los 2 grupos. Estos datos indican que la exposición al vapor de alcohol induce neuroadaptaciones de ILC en sitios pre y postsinápticos.

**Efectos de la semaglutida sobre la neurotransmisión inhibitoria en CeA e ILC.** En ratas que nunca habían bebido alcohol, la aplicación aguda de semaglutida aumentó significativamente la frecuencia de sIPSC en las neuronas CeA ( $130,7\% \pm 9,2\%$ ;  $t=3.33$ ,  $df=9$ , *PAG*=0,008), sin afectar las medidas postsinápticas (amplitudes, tiempo de subida o tiempo de caída), lo que sugiere una mayor liberación de GABA. Por el contrario, en ratas dependientes del alcohol, la semaglutida en general no alteró ningún parámetro de sIPSC. Es de destacar que la semaglutida aumentó la liberación de GABA en un subconjunto de neuronas CeA y la disminuyó en otro subconjunto (Figura 4).

En ratas que nunca habían bebido alcohol, la aplicación aguda de semaglutida aumentó significativamente la frecuencia de sIPSC en las neuronas ILC ( $140,1\% \pm 11,2\%$ ;  $t=3,56$ ,  $df=8$ , *PAG*=0,007), sin afectar las medidas postsinápticas (amplitudes, tiempo de subida o tiempo de caída), lo que sugiere una mayor liberación de GABA. Por el contrario, en ratas dependientes del alcohol, la semaglutida en general no alteró ningún parámetro de sIPSC. De manera similar a la CeA, la semaglutida aumentó la liberación de GABA en un subconjunto de neuronas ILC y la disminuyó en otro subconjunto (Figura 5).

## Discusión

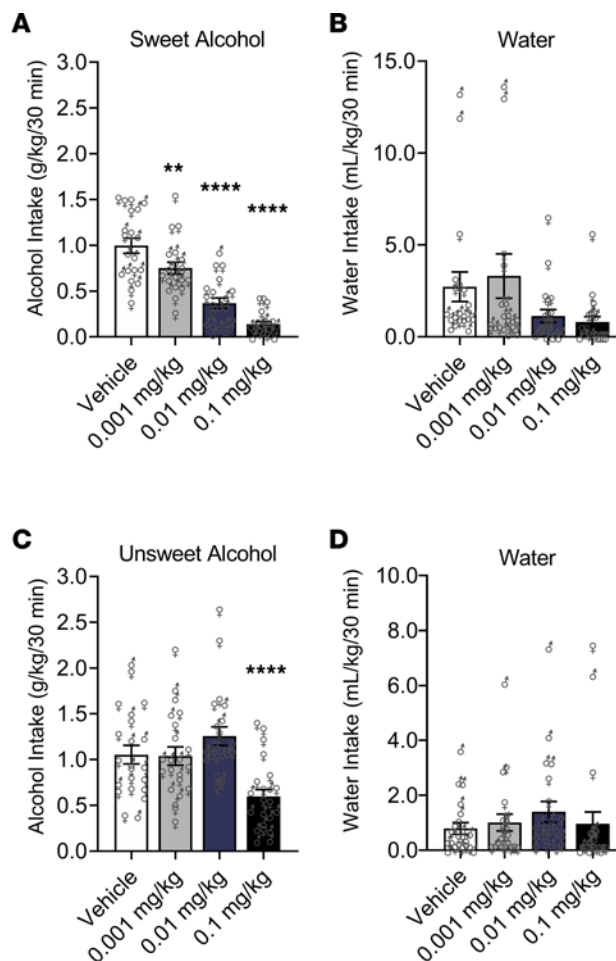
La creciente literatura sugiere un papel importante del sistema GLP-1 en el AUD y la posibilidad de que esta diana farmacológica se traduzca en humanos, dado el uso cada vez mayor de análogos de GLP-1 para tratar la diabetes mellitus tipo 2 y/o la obesidad. La mayor parte del trabajo sobre GLP-1 en el campo del alcohol se ha realizado con el fármaco prototipo exenatida y, más recientemente, con liraglutida y dulaglutida, pero la literatura es escasa sobre el impacto potencial de la semaglutida, el análogo de GLP-1 más nuevo aprobado por la FDA. con grandes ventajas traslacionales sobre los resultados relacionados con el alcohol (17). En una serie preliminar de experimentos, demostramos previamente que tanto la liraglutida como la semaglutida redujeron la ingesta de alcohol en ratas Wistar analizadas en un procedimiento de libre elección de 2 botellas, pero solo la semaglutida redujo la preferencia por el alcohol; sin embargo, este trabajo se limitó a ratas macho no dependientes (44). Teniendo en cuenta estos hallazgos previos, combinados con la creciente literatura que sugiere que la semaglutida tiene una mayor unión a GLP-1R y una mayor eficacia clínica que otros análogos selectivos de GLP-1 en el control de la glucosa y la pérdida de peso (43, 45-50), **el presente trabajo tuvo como objetivo proporcionar información detallada. información sobre los efectos bioconductuales de la semaglutida en relación con el consumo de alcohol en ratones y ratas de sexos de caja.**



**Figura 2. La semaglutida reduce el consumo de soluciones calóricas y no calóricas que no contienen alcohol en ratones.**(AyB) La semaglutida redujo la ingesta de líquidos (mL/kg de peso corporal) en ratones que bebieron agua o una solución no calórica endulzada con sacarina. (CyD) La semaglutida redujo la ingesta de calorías (Kcal/kg de peso corporal) en ratones que bebieron una solución de carbohidratos no dulces (maltodextrina) o una emulsión de grasas no dulces (aceite de maíz). Se utilizaron cohortes separadas de ratones para probar los efectos de la semaglutida en el consumo de cada solución para beber (*n*orte=8, 4 por sexo, por condición). Los datos se expresan como media  $\pm$  SEM y se analizaron mediante ANOVA de medidas repetidas unidireccionales. \*\**P*AG<0,01, \*\*\**P*AG<0,001, \*\*\*\**P*AG<0,0001 frente al vehículo. Los valores individuales se presentan para los hombres (♂) y hembras (♀).

Nuestros hallazgos aquí demuestran que la semaglutida redujo el consumo excesivo de alcohol tanto en ratones como en ratas. Este efecto se observó en hombres y mujeres, y no se detectaron diferencias de sexo. Es de destacar que la capacidad de la semaglutida para reducir el consumo excesivo de alcohol dependía de la dosis, lo que respalda aún más el papel causal de la semaglutida. El consumo excesivo de alcohol es un patrón de preocupación crítica en personas con un consumo no saludable de alcohol y es responsable de una mortalidad y morbilidad significativas. El consumo excesivo de alcohol también es un factor de riesgo importante para el desarrollo del trastorno por consumo de alcohol, que se caracteriza por el consumo crónico de alcohol a pesar de las consecuencias negativas y, en su forma más grave, la dependencia del alcohol (52, 53). Por lo tanto, probamos más a fondo la semaglutida en ratas que se volvieron dependientes del alcohol mediante un procedimiento bien establecido de exposición crónica e intermitente al vapor de alcohol (54), y descubrimos que la semaglutida reducía la ingesta de alcohol inducida por la dependencia, nuevamente sin diferencias de sexo. En conjunto, los hallazgos actuales de que la semaglutida suprime diferentes patrones de consumo de alcohol (beber en exceso en ratones y ratas y consumo de alcohol inducido por dependencia en ratas) brindan un apoyo convincente para probar la semaglutida en futuros ensayos clínicos en personas con AUD.

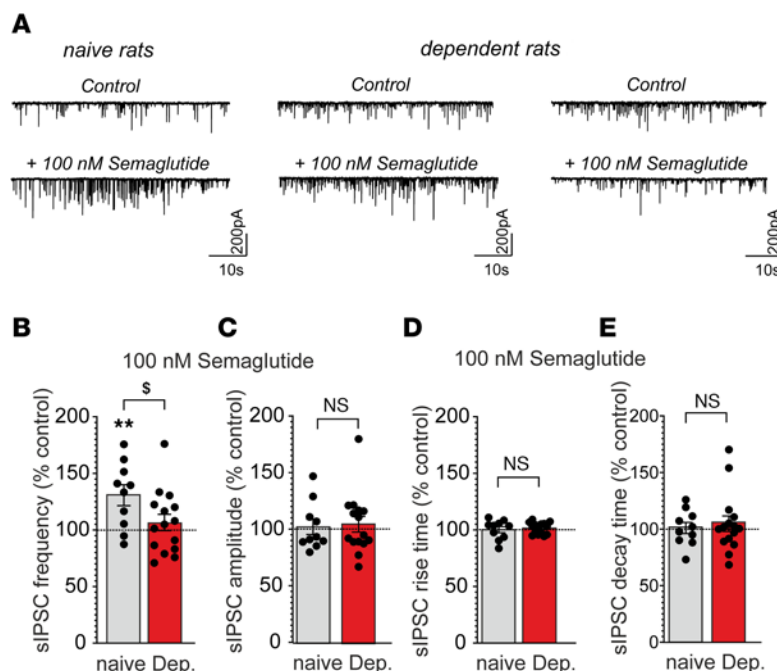
Dado el papel de la semaglutida en la reducción del apetito y el peso corporal, una pregunta crítica es si los efectos de la semaglutida en la reducción de la ingesta de alcohol son exclusivos del alcohol o se extienden a otras soluciones calóricas palatables. Para abordar esta pregunta, realizamos una serie completa de experimentos en ratones, utilizando



**Figura 3. La semaglutida reduce la autoadministración operante de alcohol en ratas.**(A) Semaglutida redujo de forma dependiente de la dosis la autoadministración de alcohol dulce (beber en exceso) en ratas. (B) La semaglutida no redujo la autoadministración de agua en ratas no dependientes (efecto de dosis significativo, pero sin diferencias post hoc significativas); Las ratas hembras no dependientes se autoadministraron significativamente más agua que los machos. Machos no dependientes (*norte*=10); mujeres no dependientes (*norte*=10). (C) La semaglutida solo en la dosis más alta (0,1 mg/kg) redujo la autoadministración de alcohol no dulce (bebida inducida por dependencia) en ratas. (D) La semaglutida no tuvo efecto sobre la autoadministración de agua en ratas alcohólicas; las ratas macho dependientes se autoadministraron significativamente más agua que las hembras. Hombres dependientes (*norte*=11); mujeres dependientes (*norte*=11). Los datos se expresan como media  $\pm$  SEM y se analizaron mediante ANOVA de medidas repetidas de 2 vías. \*\**PAG*<0,01, \*\*\*\**PAG*<0,0001 frente al vehículo. Los valores individuales se presentan para los hombres (♂) y hembras (♀).

el mismo paradigma que el alcohol (es decir, beber en la oscuridad), para examinar los efectos de la semaglutida en el consumo de soluciones sin alcohol que eran diversas en términos de contenido calórico, macronutrientes y dulzor. En este caso, además de reducir el consumo excesivo de alcohol (con y sin edulcorantes), la semaglutida redujo la ingesta de soluciones no calóricas (agua y sacarina) y calóricas (maltodextrina y aceite de maíz) que no contienen alcohol. Desde un punto de vista mecanicista, **estos resultados sugieren que los efectos de la semaglutida en la supresión de conductas consumatorias no son específicos del alcohol y podrían deberse a su capacidad para reducir el apetito y la sed, como la necesidad de ingesta general de líquidos (55-60), la palatabilidad de los dulces (sabor) (61-64), y/o necesidades de energía metabólica e ingesta de calorías (24, 65-68).** Estos resultados no son sorprendentes, dado que el papel de la semaglutida y otros análogos del GLP-1 en la reducción del apetito, la ingesta de calorías y las conductas consumatorias ha sido bien documentado, factores que contribuyeron a la aprobación de la semaglutida para el tratamiento de la obesidad (69). Creemos, por al menos tres razones, que estos hallazgos no descartan el potencial de la semaglutida como farmacoterapia para el AUD. En primer lugar, muchos medicamentos aprobados o utilizados de forma no autorizada para el tratamiento del trastorno por consumo de alcohol también influyen en el apetito y el peso (70). Por ejemplo, se sabe que el topiramato reduce el peso y está aprobado, combinado con fentermina, para el tratamiento de la obesidad (71); Aunque no está aprobado oficialmente, el topiramato está recomendado por la Asociación Estadounidense de Psiquiatría (APA) (72) y el Departamento de Asuntos de Veteranos (VA) de EE. UU.

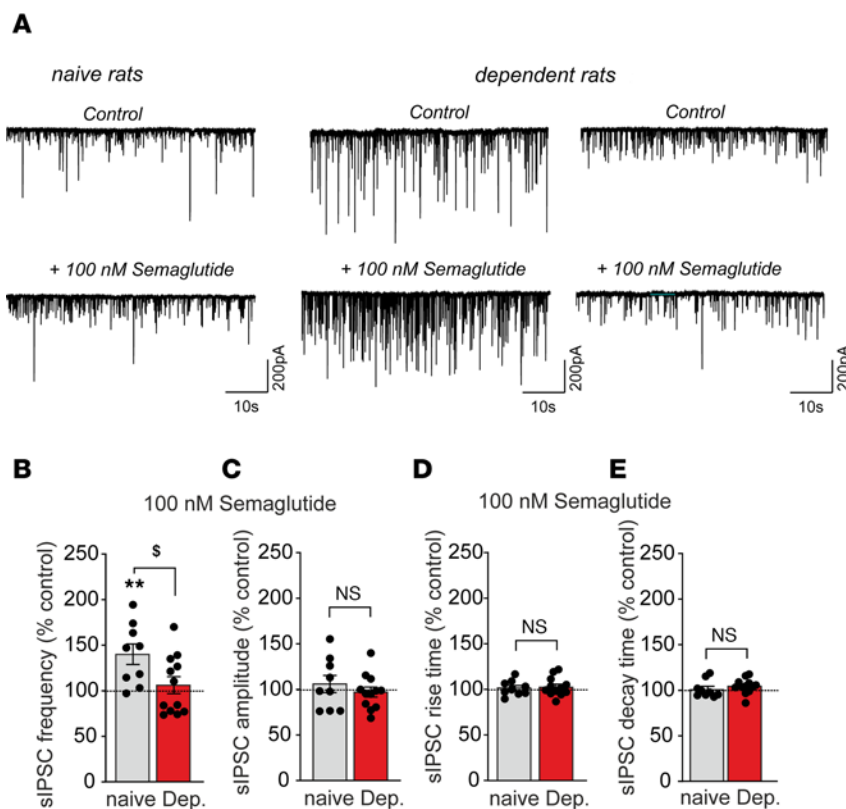




**Figura 4. La semaglutida aumentó la transmisión de GABA en el núcleo central de las neuronas de la amígdala (CeA) de ratas que nunca habían bebido alcohol, pero tuvo efectos mixtos en ratas dependientes del alcohol.** (A) Trazas representativas de corriente postsináptica inhibitoria espontánea (sIPSC) durante las condiciones de control inicial (panel superior) y durante la superfusión de semaglutida 100 nM (panel inferior). (B–E) Los gráficos de barras resumen los efectos de la semaglutida (100 nM) en las frecuencias sIPSC (B), amplitudes (C), tiempos de subida (D), y tiempos de caída (E) de 10 a 15 neuronas de ratas que no han bebido alcohol (barras grises) y ratas dependientes del alcohol (barras rojas). Los datos se expresan como media  $\pm$  SEM. Las diferencias entre semaglutida y las condiciones de control iniciales (líneas discontinuas) se analizaron utilizando la prueba de Student de 1 muestra.  $\dagger$ pruebas ( $^{**}PAG < 0,01$ ). Las diferencias de los efectos de la semaglutida en parámetros seleccionados entre ratas que no habían consumido alcohol y ratas dependientes del alcohol se analizaron utilizando el método de Student no apareado.  $\dagger$ pruebas ( $^{*}PAG < 0,05$ ). Los datos se generaron a partir de 6 ratas que nunca habían bebido alcohol y 8 ratas dependientes del alcohol, de 2 cohortes separadas de exposición crónica e intermitente al vapor de alcohol.

(73) como posible tratamiento de segunda línea para el AUD. En segundo lugar, el alcohol suele mezclarse con edulcorantes y consumirse con los alimentos; por lo tanto, un medicamento como la semaglutida también puede ayudar a las personas a reducir el consumo de bebidas y alimentos sabrosos/calóricos. En tercer lugar, el AUD y la obesidad suelen ser comórbidos con consecuencias médicas superpuestas y sinérgicas (p. ej., enfermedades hepáticas, metabólicas y cardiovasculares) (74–77); por lo tanto, la semaglutida puede tener un doble efecto beneficioso no sólo al reducir la ingesta de alcohol sino también al mejorar otros resultados relacionados con la salud.

Los hallazgos de este estudio también plantean una cuestión largamente debatida sobre si los efectos anticonsumatorios no específicos de la semaglutida están impulsados por malestar visceral y/o aversión en lugar de una atenuación de la motivación para consumir alimentos o alcohol. Las náuseas se encuentran entre los efectos secundarios más comunes de todos los análogos de GLP-1. Estudios anteriores han demostrado que la activación de GLP-1R por GLP-1 exógeno, exendina-4 o liraglutida en roedores indujo una evitación condicionada del gusto y un comportamiento de pica que puede considerarse malestar visceral (78–81), aunque no se observaron indicadores similares de malestar en primates no humanos (82, 83). Ghidewon y sus colegas demostraron que la semaglutida administrada periféricamente inducía malestar visceral y reducía la motivación por la comida en ratas (84). Otros estudios sugieren que los efectos del GLP-1 sobre el malestar visceral y el comportamiento consumatorio son disociables y pueden estar mediados por distintas poblaciones de GLP-1R (26, 57, 79, 85–88). Por ejemplo, la exendina-4 administrada en el núcleo accumbens, el área tegmental ventral y el NTS redujo el comportamiento de recompensa de alimentos y drogas (26, 86, 87, 89–97), sin producir una evitación condicionada del gusto o un comportamiento de pica (86, 87). Además, el efecto superior de la semaglutida sobre la pérdida de peso en comparación con otros análogos selectivos del GLP-1 no puede atribuirse a una mayor incidencia de eventos gastrointestinales adversos en poblaciones clínicas, y dichos eventos a menudo son transitorios y se asocian con un aumento de la dosis (46, 98). Por lo tanto, los efectos de la semaglutida en el presente estudio probablemente se deban a una combinación de malestar y motivación reducida para el consumo de alcohol, aunque vale la pena señalar que, en pacientes con diabetes y/u obesidad tratados con semaglutida, náuseas y otros efectos secundarios gastrointestinales suelen ser transitorios.



**Figura 5.** La semaglutida aumentó la transmisión de GABA en las neuronas piramidales de la capa 5 de la corteza infralímbica (ILC) de ratas que nunca habían bebido alcohol, pero tuvo efectos mixtos en ratas dependientes del alcohol. (A) Trazas representativas de corrientes postsinápticas inhibitorias espontáneas (sIPSC) durante las condiciones de control inicial (panel superior) y durante la superfusión de semaglutida 100 nM (panel inferior). (B–E) Los gráficos de barras resumen los efectos de la semaglutida (100 nM) en las frecuencias sIPSC (B), amplitudes (C), tiempos de subida (D), y tiempos de caída (E) de 9 a 12 neuronas de ratas que no han bebido alcohol (barras grises) y ratas dependientes del alcohol (barras rojas). Los datos se expresan como media  $\pm$  SEM. Las diferencias entre semaglutida y las condiciones de control iniciales (líneas discontinuas) se analizaron utilizando la prueba de Student de 1 muestra.  $\dagger$ pruebas (\*\* $P < 0,01$ ). Las diferencias de los efectos de la semaglutida en parámetros seleccionados entre ratas que no habían consumido alcohol y ratas dependientes del alcohol se calcularon utilizando el método de Student no apareado.  $\dagger$ pruebas ( $\dagger P < 0,05$ ). Los datos se generaron a partir de 5 ratas que nunca habían bebido alcohol y 7 ratas dependientes del alcohol, de 2 cohortes separadas de exposición crónica e intermitente al vapor de alcohol.

Para obtener una comprensión detallada del alcance de los efectos de la semaglutida, realizamos experimentos adicionales para examinar posibles interacciones con la farmacocinética del alcohol, la coordinación motora y la locomoción. Estos resultados son particularmente relevantes desde un punto de vista traslacional, dada la creciente evidencia que respalda la consideración de criterios de valoración de no abstinencia en los ensayos clínicos de AUD (99, 100). Si bien este cambio tiene importantes implicaciones clínicas y de salud pública, también resalta la importancia de descartar las interacciones entre drogas y alcohol en los esfuerzos de desarrollo de medicamentos para el AUD. Lo más importante en este contexto es que nuestros experimentos en ratones no mostraron ningún efecto de la semaglutida sobre los niveles de alcohol en sangre o la ataxia inducida por el alcohol, lo que indica que es poco probable que la coadministración de semaglutida y alcohol cause efectos farmacocinéticos o sedantes adicionales relacionados con el alcohol. También probamos los posibles efectos sedantes de la semaglutida per se (es decir, en ausencia de alcohol) y descubrimos que la semaglutida no alteraba la coordinación motora en ratones, aunque reducía la locomoción espontánea en la dosis más alta. Semaglutida no afectó la locomoción espontánea en ratas dependientes del alcohol. Aunque la ingesta de agua se redujo en los ratones tratados con semaglutida, no se observó el mismo efecto en las ratas, una observación consistente con nuestro trabajo preliminar previo en ratas macho (44). Las diferencias entre especies, incluido el metabolismo de los fármacos, pueden explicar, al menos en parte, los diferentes resultados entre ratones y ratas. Otra posible explicación es que a los ratones se les ofrecía agua como única fuente de líquido en una sola botella, mientras que a las ratas se les ofrecía agua y alcohol simultáneamente en una condición operante de 2 palancas.

En un esfuerzo por obtener información mecanicista inicial, probamos los efectos de la semaglutida en la transmisión sináptica GABAérgica en CeA e ILC, 2 áreas del cerebro críticamente involucradas en las conductas relacionadas con el alcohol (28, 29, 101, 102). Descubrimos que la semaglutida indujo un aumento en la transmisión de CeA e ILC GABA en ratas que nunca habían bebido alcohol. Estos resultados son consistentes con estudios previos, realizados fuera del ámbito del alcohol/adicción.



campo, que muestra un aumento de la señalización GABAérgica en el hipotálamo (103) y el hipocampo (38, 104, 105) de roedores que no habían bebido alcohol después del tratamiento con GLP-1 u otros análogos de GLP-1, lo que podría estar relacionado con un aumento de los niveles de AMPc intracelular después del GLP. -Activación 1R (39, 106, 107). Sin embargo, en ratas dependientes del alcohol, encontramos efectos mixtos de semaglutida sobre la señalización de GABA tanto en CeA como en ILC. Específicamente, encontramos que la semaglutida aumentó la liberación de GABA dependiente de la red en un pequeño subconjunto de células, mientras que la disminuyó en las células restantes, lo que resultó en un promedio de ningún efecto de la semaglutida sobre las sinapsis GABAérgicas en el contexto de la dependencia del alcohol. Se observa una señalización GABAérgica elevada en el CeA después de la exposición crónica al alcohol en múltiples especies (28, 33, 108, 109), y la reducción del tono GABAérgico elevado en el CeA es un denominador común de varias drogas que suprimen el consumo de alcohol (101, 110, 111). Con base en los datos electrofisiológicos actuales, solo podemos especular los mecanismos potenciales subyacentes a los efectos mixtos de la activación de GLP-1R en la transmisión de CeA e ILC GABA en los animales dependientes del alcohol. Por ejemplo, se ha demostrado que el efecto de la liraglutida sobre la transmisión de GABA en el hipocampo requiere una red sináptica intacta, ya que el bloqueo de la generación y propagación de potenciales de acción abolió la mejora de la actividad GABAérgica inducida por la liraglutida (104). Por lo tanto, las disminuciones observadas en la transmisión de GABA dependiente de la red con semaglutida pueden reflejar la activación de la red sináptica que comprende neuronas inhibitorias aguas arriba en lugar de un simple efecto presináptico de la semaglutida en las terminales GABAérgicas dentro de CeA e ILC. Alternativa o adicionalmente, la exposición al alcohol puede alterar los mecanismos intracelulares relacionados con la activación de GLP-1R, lo que da como resultado efectos opuestos de la semaglutida en distintas subpoblaciones neuronales que pueden proyectarse a diferentes regiones del cerebro. En conjunto, aunque nuestros resultados de electrofisiología no explican completamente los efectos de la semaglutida sobre la ingesta de alcohol, estos datos apuntan a importantes neuroadaptaciones en el sistema GLP-1 y la posterior regulación de las sinapsis CeA e ILC GABAérgicas en el contexto de la dependencia del alcohol.

Desde el punto de vista del desarrollo de medicamentos traslacionales, es fundamental identificar los factores potenciales que predicen la respuesta a ciertos medicamentos AUD (1, 112). Aunque la eficacia de la semaglutida y otros análogos del GLP-1 para el AUD debe demostrarse en ensayos clínicos, es poco probable que funcionen para todas las personas. Un ensayo clínico reciente probó el análogo del GLP-1 exenatida de liberación prolongada (una vez por semana) en personas con AUD y encontró que, en comparación con el placebo, la exenatida no redujo el consumo de alcohol en toda la muestra. Sin embargo, los análisis exploratorios mostraron que exenatida redujo significativamente el consumo de alcohol en un subgrupo de pacientes con AUD y obesidad comórbida (IMC > 30 kg/m<sup>2</sup>) (113). Destacando aún más el papel potencial de los análogos de GLP-1 en el tratamiento del AUD, un estudio de cohorte reciente, complementado con un análisis de series de casos autocontrolados, sugirió que el uso de análogos de GLP-1 (agrupados como una clase y prescritos para sus indicaciones actualmente aprobadas ) podría estar asociado con una menor incidencia de eventos relacionados con el alcohol (114).

El conjunto actual de datos psicofarmacológicos y electrofisiológicos respalda aún más el papel del GLP-1 en el consumo de alcohol y otras conductas consumatorias. Estos son hallazgos traslacionalmente relevantes y, en general, consistentes con la evidencia humana reciente que sugiere un papel del sistema GLP-1 en el consumo de alcohol y el AUD, como lo indican los estudios de administración de alcohol (115, 116), los análisis cerebrales post mortem (115) y las pruebas de neuroimagen. investigaciones genéticas (116, 117). Nuestros experimentos de comportamiento se realizaron en 2 especies de ambos sexos, emplearon una variedad de fenotipos relacionados con el alcohol e incluyeron un conjunto completo de experimentos de control para tener en cuenta los posibles efectos no específicos de la semaglutida. A diferencia de la mayor parte de la literatura previa en el campo del alcohol y la adicción, probamos un nuevo análogo del GLP-1 de acción prolongada, la semaglutida, que tiene un alto potencial de traducción clínica. Nuestros experimentos electrofisiológicos, realizados tanto en ratas que no han recibido tratamiento previo como en ratas dependientes del alcohol, también proporcionan información mecanicista importante, aunque preliminar, sobre los efectos centrales de la semaglutida y posiblemente de otros análogos de GLP-1 en el contexto del consumo de alcohol. Una consideración importante para nuestro trabajo de electrofisiología es que los estudios futuros deberían expandirse a otras regiones y redes del cerebro que son clave tanto para el consumo de alcohol como para la señalización de GLP-1. Por ejemplo, el NTS es una región clave donde algunas neuronas GLP-1 muestran hiperexcitabilidad después de la abstinencia de alcohol (118). A diferencia de nuestros experimentos conductuales que incluyeron a ambos sexos, los experimentos de electrofisiología solo incluyeron hombres, y el trabajo futuro debería ampliarse a las mujeres.

En resumen, este trabajo demuestra efectos bioconductuales clave de la semaglutida, análogo de GLP-1, en la reducción del consumo de alcohol y la modulación de la neurotransmisión central GABA, que brindan un apoyo convincente para el papel del sistema GLP-1 como un objetivo farmacoterapéutico potencial para el AUD.

## Métodos

**animales.** Adulto, macho (*norte*=40) y mujer (*norte*=37) Los ratones C57BL/6J se obtuvieron del Laboratorio Jackson y pesaron entre 15 y 25 g a su llegada. Adulto, macho (*norte*=21) y mujer (*norte*=21) Las ratas Wistar se obtuvieron de Charles River Laboratories y pesaron entre 180 y 360 g al inicio de

experimento conductual. Adulto, macho (*norte*=18) Las ratas Wistar utilizadas para estudios de electrofisiología fueron criadas en el Instituto de Investigación Scripps y pesaron entre 380 y 700 g. Los ratones y las ratas se alojaron individualmente y en grupo, respectivamente, en jaulas estándar y en habitaciones separadas con temperatura y humedad controladas con un ciclo inverso de luz/oscuridad de 12 horas/12 horas ( $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 50%–60%, luces encendidas a las 19 horas). Todas las pruebas de comportamiento se realizaron durante el ciclo de oscuridad. La comida y el agua estuvieron disponibles ad libitum excepto durante las pruebas de comportamiento. Los animales se habituaron a las instalaciones para animales durante al menos 1 semana antes de comenzar los experimentos.

**Drogas.** Para las pruebas de comportamiento, se preparó semaglutida (Peptide International) utilizando dimetilsulfóxido (DMSO; Thermo Fisher Scientific) al 1,25 % (v/v) y Tween 80 al 1,25 % (v/v) (Thermo Fisher Scientific), y se diluyó con solución salina al 0,9 %. (Hospira). Siguiendo un diseño de cuadrado latino intrasujetos, se administró semaglutida (0,001, 0,003, 0,01, 0,03, 0,1 mg/kg en ratones; 0,001, 0,01, 0,1 mg/kg en ratas) y vehículo. 10 mL/kg en ratones y 1 mL/kg en ratas. La solución de alcohol utilizada para inyecciones sistémicas en los experimentos con rotarod en ratones se preparó con etanol de 200 grados (Pharmco) en solución salina al 0,9% para producir una solución de alcohol al 20% (v/v). Esta solución se administró ip a una dosis de 2,0 g/kg. Para estudios de electrofisiología, soluciones madre de semaglutida (BOC Sciences), CGP55845A (Tocris), 6,7-dinitroquinoxalina-2,3-diona (DNQX; Tocris) y DL-2-amino-5-fosfonovalerato (DL-AP5; Tocris) se prepararon en agua destilada o DMSO, se dividieron en alícuotas, se congelaron y se agregaron a la solución del baño.

**Soluciones para beber.** Todas las soluciones para beber se prepararon utilizando agua del grifo y etanol de 190 grados (The Warner-Graham Company). A los ratones con acceso al alcohol se les dio una solución de alcohol dulce (20% v/v de etanol, 3% p/v de glucosa, 0,1% p/v de sacarina) o no dulce (20% v/v de etanol). Los ratones a los que se les dio acceso a soluciones para beber que no contenían alcohol recibieron una solución dulce calórica (0,3% p/v de glucosa, 0,01% p/v de sacarina), una solución dulce no calórica (0,1% p/v de sacarina), un carbohidrato no dulce (28% p/v de maltodextrina), una emulsión de grasa no dulce (12,5 % p/v de aceite de maíz, 0,5 % v/v de Tween 80) o agua del grifo. El contenido calórico de la solución de maltodextrina y la emulsión de aceite de maíz se aproxima al del 20% v/v de etanol. Para la autoadministración operante, a las ratas no dependientes se les dio acceso a una solución de alcohol dulce (10% p/v de etanol, 3% p/v de glucosa, 0,1% p/v de sacarina), y a las ratas dependientes del alcohol se les dio acceso a una solución no dulce. solución de alcohol (10% p/v de etanol).

**Prueba de beber en la oscuridad en ratones.** Se utilizó una prueba de beber en la oscuridad (DID) para modelar el consumo excesivo de alcohol en ratones (119, 120). Inicialmente, se utilizó un protocolo de 4 días en el que los ratones tenían acceso a soluciones para beber durante 2 horas durante los primeros 3 días y durante 4 horas el cuarto día. Cumplimos con este programa durante 3 semanas antes de cambiar a un procedimiento DID modificado de 2 días. Aquí, los ratones recibieron una sesión de 2 horas durante 1 día y una sesión de 4 horas al día siguiente. Después de un día libre, se llevó a cabo una segunda ronda de DID de 2 días en la misma semana. Los efectos de semaglutida (2 dosis por semana) se evaluaron durante las sesiones de prueba de 4 horas. Se administró semaglutida (sc) 30 minutos antes de que los ratones tuvieran acceso a las soluciones para beber, 3 horas después de la fase oscura (119). Durante todas las sesiones de DID, se retiró la comida y el agua de las jaulas de la casa. Los ratones con acceso únicamente a agua del grifo durante la sesión DID fueron privados de agua inmediatamente después de la sesión DID de 2 horas y se les dio acceso nuevamente durante la sesión DID de 4 horas al día siguiente. El volumen/calorías consumidas se calcularon a partir del cambio de peso de las botellas de agua, que se pesaron a las 0, 2 y/o 4 horas durante una sesión de DID.

**Ingesta de alimentos y agua en ratones.** Los efectos de la semaglutida sobre la ingesta de comida y agua se evaluaron en ratones que previamente bebían alcohol sin azúcar. Se administró semaglutida o vehículo 3 horas después de la fase oscura y se midieron los alimentos y el agua 24 horas después del tratamiento.

**Coordinación motora y niveles de alcohol en sangre en ratones.** Los efectos de la semaglutida sobre la coordinación motora se evaluaron mediante una prueba de aceleración de rotarod en ratones (120, 121). Se colocaron ratones que previamente bebían alcohol sin azúcar en el aparato rotarod (Rotamex-5, Columbus Instruments) y se habituaron durante 1 minuto con la varilla girando a una velocidad constante de 4 rpm. Durante el entrenamiento y las pruebas de prueba, se colocó a los ratones en la varilla fijada a 4 rpm con una velocidad de aceleración constante de 8 rpm/min hasta un máximo de 40 rpm. La latencia de caída se registró automáticamente mediante haces de fotocélulas, con una latencia de corte máxima de 5 minutos. Inmediatamente después de la habituación, los ratones recibieron 5 pruebas de entrenamiento consecutivas, separadas por intervalos de descanso de 5 minutos, y se les dio un período mínimo de descanso de 24 horas antes de las pruebas. En los días de prueba, los ratones recibieron 2 pruebas de referencia separadas por intervalos de descanso de 5 minutos.

Para probar los efectos de la semaglutida per se sobre la coordinación motora (condición salina), a los ratones se les administró vehículo o semaglutida (0,01, 0,1 mg/kg; sc). Treinta minutos después, se les inyectó solución salina (10 mL/kg; ip) y se les realizó la prueba en el rotarod 30, 60 y 90 minutos después de la inyección de solución salina. Para probar los efectos de la semaglutida sobre la ataxia inducida por el alcohol (condición alcohólica), a los ratones se les inyectó vehículo o semaglutida (0,01, 0,1 mg/kg; sc), seguido de 2 g/kg de alcohol 30 minutos más tarde y luego se probaron en el rotarod. 15,

30, 60, 90 y 120 minutos después de la inyección de alcohol. Tanto para condiciones de solución salina como de alcohol, utilizamos un diseño de cuadrado latino intrasujetos, y cada prueba se realizó con al menos 24 horas de diferencia. Se extrajo sangre a través de la vena submandibular inmediatamente después de las pruebas de prueba de 30 y 90 minutos para medir los BAL, utilizando un analizador de alcohol Analox (Analox Technologies North America).

*Prueba de locomoción espontánea en ratones.* Se utilizó una prueba de corredor circular (120) para evaluar los efectos de la semaglutida sobre la locomoción espontánea en ratones a los que se les dio acceso a agua del grifo durante el TID. El aparato de pasillo circular (Anillo de gradiente térmico, Ugo Basile) estuvo a temperatura ambiente (22 °C) durante todo el experimento. Primero se permitió a los ratones explorar el aparato libremente durante 20 minutos para habituarse y luego se les dio un período mínimo de descanso de 24 horas. En los días de prueba, a los ratones se les administró vehículo o semaglutida (0,01, 0,1 mg/kg; sc) en un diseño de cuadrado latino intrasujetos y se los devolvió a sus jaulas durante 3 horas. Luego se colocaron los ratones en el pasillo circular para una sesión de prueba de 20 minutos. Se utilizó el software de seguimiento de video AnyMaze (Stoelting) para rastrear la distancia total recorrida por cada mouse.

*Autoadministración operante de alcohol en ratas.* Se utilizaron soluciones alcohólicas dulces y no dulces para la autoadministración operante en ratas (54, 122). Para modelar el consumo excesivo de alcohol, se entrenó a ratas para que se autoadministraran una solución de alcohol dulce (10 % v/v de etanol, 3 % p/v de glucosa, 0,1 % p/v de sacarina) y agua bajo un régimen fijo de libre elección, programa de refuerzo de relación 1 (FR1) en cámaras de acondicionamiento operante estándar (28 × 26 × 20 cm; Med Associates) (122, 123). Las ratas dependientes del alcohol fueron entrenadas de manera similar, excepto que recibieron alcohol sin azúcar (10% v/v de etanol) y agua (54, 120). Cada respuesta operante a la palanca asociada al alcohol o al agua se reforzó con la administración de 0,1 ml de líquido. Después de las respuestas operantes al alcohol, se iluminó una luz de señal ubicada encima de la palanca asociada al alcohol durante la administración de la solución de alcohol (2 segundos). Durante este tiempo, las presiones adicionales de la palanca no dieron lugar a otra entrega de fluido. No se asoció ninguna luz de señal con el suministro de agua. Después de aproximadamente 16 sesiones de entrenamiento, las ratas se sometieron a sesiones de autoadministración de FR1 de 30 minutos para evaluar los efectos de la semaglutida. Se administró semaglutida (0,001, 0,01, 0,1 mg/kg; sc) o vehículo 3 horas antes de cada sesión de autoadministración, siguiendo un diseño de cuadrado latino intrasujetos.

*Exposición al vapor de alcohol en ratas.* Las ratas que fueron entrenadas en la autoadministración operante de alcohol no dulce (descrita anteriormente) se volvieron dependientes del alcohol por la exposición crónica e intermitente al vapor de alcohol (54, 120, 124). Brevemente, las ratas fueron expuestas a 14 horas de vapor de alcohol por día, seguidas de 10 horas de aire ambiente (abstinencia). El BAL objetivo para las ratas durante la exposición al vapor de alcohol fue de entre 150 y 250 mg/dL. Las ratas se sometieron a pruebas de comportamiento durante la abstinencia espontánea aguda (es decir, de 6 a 8 horas después de que se apagó el vapor). Las ratas no dependientes fueron expuestas al aire sin alcohol y fueron analizadas al mismo tiempo que las ratas dependientes. Se administró semaglutida (0, 0,001, 0,01 y 0,1 mg/kg; ip) 3 horas antes de una sesión de bebida.

Las ratas utilizadas para los experimentos de electrofisiología también se hicieron dependientes del alcohol siguiendo un protocolo de vapor de alcohol durante 5 a 7 semanas (31, 32, 101). Los BAL se midieron 1 a 2 veces por semana (BAL promedio =  $193 \pm 27$  mg/dL) y se utilizaron ratas expuestas al aire como controles (sin alcohol).

*Locomoción espontánea en ratas.* Los efectos de la semaglutida sobre la locomoción espontánea en ratas se evaluaron mediante una prueba de campo abierto. Primero se habituaron ratas dependientes del alcohol al aparato (40 × 40 cm) durante 15 minutos. En los días de prueba, a las ratas se les administró semaglutida (0,1 mg/kg; sc) o vehículo, en orden aleatorio y, 3 horas más tarde, se colocaron en el centro del campo abierto y se les permitió libre acceso durante 15 minutos. Las pruebas en campo abierto estuvieron separadas por al menos 3 días y se realizaron bajo luz roja. Se utilizó el software AnyMaze Video Tracking (Stoelting) para rastrear la distancia total recorrida por cada rata.

*Preparación de cortes y registros electrofisiológicos.* La preparación de cortes de cerebro y registros electrofisiológicos se realizó como se describió anteriormente (31–33). Brevemente, ratas profundamente anestesiadas (anestesia con isoflurano del 3% al 5%) fueron decapitadas rápidamente y sus cerebros se aislaron en una solución de corte con alto contenido de sacarosa, oxigenada y helada (composición en mM: 206 sacarosa, 2,5 KCl, 0,5 CaCl<sub>2</sub>, 7 MgCl<sub>2</sub>, 1,2 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 26 NaHCO<sub>3</sub>, 5 glucosa y 5 HEPES). Luego dividimos los cerebros con un corte coronal aproximadamente en bregma para permitir cortar cortes cerebrales agudos de 2 regiones diferentes al mismo tiempo. Específicamente, cortamos cortes coronales que contenían la subdivisión medial del CeA (300 μm; usando un vibratomo Leica VT 1000S) y cortes coronales que contenían la ILC (300 μm; usando un vibratomo Leica VT1200), que luego se incubaron durante 30 minutos en 37 °C de líquido cefalorraquídeo artificial (LCRa) oxigenado y tibio (composición en mM: 130 NaCl, 3,5 KCl, 2 CaCl<sub>2</sub>, 1,25 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,5 MgSO<sub>4</sub>, 24 NaHCO<sub>3</sub> y 10 glucosa; Sigma-Aldrich), seguido de otros 30 minutos de incubación a temperatura ambiente. Las ratas dependientes fueron sacrificadas dentro de la última hora de su exposición diaria al vapor de alcohol. No añadimos etanol a ningún

de las soluciones utilizadas para la preparación e incubación de cortes de cerebro; por lo tanto, las rodajas sufrieron una retirada aguda in vitro, como se mostró anteriormente (31, 32, 101).

Utilizando la pinza de parche de células completas, registramos sIPSC mediadas por el receptor GABA farmacológicamente aislados de 33 neuronas CeA y 26 ILC mantenidas a  $-60$  mV agregando DNQX  $20$   $\mu$ M (para bloquear los receptores AMPA y kainato), AP-5  $30$   $\mu$ M (para bloquear receptores NMDA) y CGP55845A  $1$   $\mu$ M (para bloquear los receptores GABA presinápticos) a la solución del baño (31–33, 109–111). Las neuronas se visualizaron con óptica de contraste de interferencia diferencial infrarroja, utilizando 40x o 60x objetivos de inmersión en agua (Olympus BX51WI, Olympus Scientific Solutions) y cámaras CCD (EXi Aqua, QImaging Corporation). No seleccionamos un tipo de célula neuronal específica en el CeA (125), mientras que solo registramos neuronas piramidales en la capa 5 de la ILC (capacitancia  $> 70$  pF). Todas las grabaciones se realizaron en modo de adquisición sin espacios con una frecuencia de muestreo de  $20$  kHz y filtrado de paso bajo de  $10$  kHz, utilizando un amplificador MultiClamp700B, Digidata 1440A y el software pClamp 10 (Molecular Devices). Se extrajeron pipetas de parche de vidrio de borosilicato ( $3$ – $5$  m $\Omega$ , King Precision Glass) y se llenaron con una solución interna a base de KCl (composición en mM:  $145$  KCl,  $5$  EGTA,  $5$  MgCl,  $10$  HEPES,  $2$  Mg-ATP y  $0,2$  Na-GTP; pH  $7,2$ – $7,4$  ajustado con NaOH  $1$  M,  $295$ – $315$  mOsm; Solo registramos desde neuronas con una resistencia de acceso ( $R_a$ )  $<15$  M $\Omega$ , que cambió menos de  $<20\%$  durante la grabación, según lo monitoreado mediante pulsos frecuentes de  $10$  mV. Se aplicó semaglutida ( $100$  nM) (126) mediante perfusión en baño.

**Estadísticas.** Los datos de DID de ratones que bebieron alcohol dulce, alcohol no dulce o la solución calórica dulce que no contenía alcohol, así como los datos de autoadministración operante de ratas (beber en forma compulsiva e inducida por dependencia) se analizaron utilizando medidas repetidas de 2 vías. ANOVA con Dosis como factor intrasujetos y Sexo como factor entre sujetos. Como no encontramos interacciones entre dosis y sexo, todos los demás datos de comportamiento se analizaron combinando hombres y mujeres. Así, los datos de DID de ratones que bebieron agua del grifo, la solución de sacarina (dulce, no calórica), la solución de maltodextrina (no dulce, calórica) o la emulsión de aceite de maíz (no dulce, calórica); datos sobre comida y consumo de agua; y los datos de locomoción espontánea (distancia total recorrida en el corredor circular y en campo abierto por ratones y ratas, respectivamente) se analizaron utilizando ANOVA de medidas repetidas unidireccionales o método de Student de dos colas emparejado. *t* prueba, con la dosis como factor intrasujetos. Los datos de rotarod y BAL de ratones se analizaron utilizando ANOVA de medidas repetidas bidireccionales con dosis y tiempo como factores intrasujetos; la condición salina y la condición alcohólica se analizaron por separado. Cuando fue apropiado, se utilizaron las pruebas de Dunnett, Tukey o Duncan para comparaciones post hoc.

Los datos de electrofisiología se obtuvieron de 59 neuronas individuales de 18 ratas diferentes. La frecuencia, la amplitud, el tiempo de subida y caída de los sIPSC se analizaron de forma semiautomática utilizando el software MiniAnalysis (Synaptosoft Inc.). Cada evento se confirmó visualmente y se excluyeron las sIPSC con amplitudes  $<5$  pA. Combinamos eventos de intervalos de 3 minutos para obtener características sIPSC promediadas. Para tener en cuenta la variabilidad entre células, normalizamos todos los parámetros relevantes (frecuencia, amplitud, tiempo de subida y caída) a las condiciones de control iniciales y agrupamos los datos antes de los análisis de grupo. Usamos 1 muestra/pruebas para examinar los cambios con respecto a las condiciones de control iniciales. Estudiante no emparejado. Luego se utilizaron pruebas para comparar los efectos de la semaglutida en las características de sIPSC entre los grupos sin experiencia previa con el alcohol y los dependientes del alcohol.

Todos los datos se representan como media  $\pm$  SEM. *APAG* un valor inferior a  $0,05$  (bilateral) se consideró significativo. Para los análisis se utilizaron Prism 8 (GraphPad Prism) y Statistica 13 (TIBCO Software).

**Aprobación del estudio.** Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con las *Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio* (National Academies Press, 2011) y fueron aprobados por la IACUC del NIDA IRP o el Instituto de Investigación Scripps.

**Disponibilidad de datos.** Los datos están disponibles a través de los autores correspondientes previa solicitud razonable.

### Contribuciones de autor

VC, MF, SK, MR, LFV y LL conceptualizaron el estudio y diseñaron los experimentos. VC, SK, CLP, SKE, RV y RCNM realizaron los experimentos. VC, MF, SK, CLP, RV, RCNM y LFV analizaron los datos. VC, MF, SK, CLP, MR, LFV y LL escribieron el borrador original. RCNM y GFK proporcionaron comentarios críticos. MF, GFK, MR, LFV y LL proporcionaron financiación. Todos los autores leyeron y aprobaron el manuscrito final. Los tres coautores (VC, MF y SK) se enumeraron en orden alfabético.

### Expresiones de gratitud

Los autores desean agradecer a todo el personal involucrado en la recopilación de datos, la gestión, el apoyo y el cuidado de los animales, en el NIDA IRP y en el Scripps Research Institute.

Este trabajo fue apoyado por la financiación intramuros de los NIH ZIA-DA-000635 (Sección Conjunta de Psiconeuroendocrinología y Neuropsicofarmacología Clínica NIDA/NIAAA, PI: LL), ZIA-DA000602 (Sección de Neurobiología de la Adicción del NIDA, PI: GFK), ZIA-DA000644 (Estrés & Addiction Neuroscience Unit, PI: LVF), financiación externa NIH/NIAAA AA029841, P60 AA006420, AA027700, AA017447, AA029841 y AA013498 (PI: MR), y una beca del Centro de Comportamientos Compulsivos financiada por el Director Adjunto de NIH para Premio a la Innovación en Investigación Intramural (MF y RCNM). Este trabajo también fue apoyado por un Premio de Investigación Pathways financiado por el Programa de Premios de Investigación Pathways de Alkermes (PI: MF), que no tuvo ningún papel en el diseño del estudio, la ejecución o la interpretación de los resultados. El contenido de este artículo es responsabilidad exclusiva de los autores y no representa necesariamente la opinión oficial de las agencias de financiación.

Dirija la correspondencia a: Lorenzo Leggio o Leandro F. Vendruscolo, Biomedical Research Center, 251 Bayview Blvd, Suite 200, Room 04A515, Baltimore, Maryland 21224, EE. UU. Teléfono: 443.740.2801 ; Correo electrónico: lorenzo.leggio@nih.gov (LL); Correo electrónico: leandro.vendruscolo@nih.gov (LVF).

1. Witkiewitz K, et al. Avances en la ciencia y el tratamiento del trastorno por consumo de alcohol. *Ciencia avanzada*. 2019;5(9):eaax4043.
2. Moore CF, et al. Comer en exceso patológico: evidencia emergente de un constructo compulsivo. *Neuropsicofarmacología*. 2017;42(7):1375–1389.
3. Volkow ND, et al. La dimensionalidad adictiva de la obesidad. *Psiquiatría biológica*. 2013;73(9):811–818.
4. Farokhnia M, et al. Grelina: de una hormona intestinal a un posible objetivo terapéutico para el trastorno por consumo de alcohol. *Comportamiento fisiológico*. 2019;204:49–57.
5. Jerlhag E. Eje intestino-cerebro y trastornos adictivos: una revisión centrada en el alcohol y las drogas de abuso. *Farmacol Ther*. 2019;196:1–14.
6. Klausen MK, et al. El papel del péptido 1 similar al glucagón (GLP-1) en los trastornos adictivos. *Br J Pharmacol*. 2022;179(4):625–641.
7. Novak U, et al. ARNm idéntico para preproglucagón en páncreas e intestino. *Eur J Bioquímica*. 1987;164(3):553–558.
8. Larsen PJ, et al. Distribución del péptido 1 similar al glucagón y otros péptidos derivados del preproglucagón en el hipotálamo y el tronco del encéfalo de rata. *Neurociencia*. 1997;77(1):257–270.
9. Jensen CB, et al. Caracterización del receptor del péptido 1 similar al glucagón en cerebro de ratón macho utilizando un nuevo anticuerpo e hibridación in situ. *Endocrinología*. 2018;159(2):665–675.
10. Krieger JP, et al. Mediación vagal de los efectos del GLP-1 sobre la ingesta de alimentos y la glucemia. *Comportamiento fisiológico*. 2015;152(pt b):372–380.
11. Madsbad S. El papel del deterioro del péptido 1 similar al glucagón en la obesidad y posibles implicaciones terapéuticas. *Diabetes Obesidad Metab*. 2014;16(1):9–21.
12. Durante MJ, et al. El receptor del péptido 1 similar al glucagón participa en el aprendizaje y la neuroprotección. *Nat Med*. 2003;9(9):1173–1179.
13. Kinzig KP, et al. Los receptores del péptido 1 similar al glucagón del SNC median las respuestas endocrinas y de ansiedad a factores estresantes interoceptivos y psicógenos. *J Neurosci*. 2003;23(15): 6163–6170.
14. Eren-Yazicioglu CY, et al. ¿Puede el GLP-1 ser un objetivo para los trastornos relacionados con el sistema de recompensa? Una síntesis cualitativa y un análisis de revisión sistemática de estudios sobre alimentos sabrosos, drogas de abuso y alcohol. *Neurociencias del comportamiento frontal*. 2021;14:614884.
15. Guerrero-Hreins E, et al. El potencial terapéutico de los análogos de GLP-1 para la alimentación relacionada con el estrés y el papel del GLP-1 en el estrés, las emociones y el estado de ánimo: una revisión. *Prog Neuropsicofarmacol Biol Psiquiatría*. 2021;110:110303.
16. Trapp S, Brierley DL. GLP-1 cerebral y la regulación de la ingesta de alimentos: acción del GLP-1 en el cerebro y sus implicaciones para los agonistas del receptor de GLP-1 en el tratamiento de la obesidad. *Br J Pharmacol*. 2022;179(4):557–570.
17. Jerlhag E. Comportamientos mediados por el alcohol y el eje intestino-cerebro; centrándose en el péptido 1 similar al glucagón. *Res. cerebral*. 2020;172:146562.
18. Heppner KM, et al. Expresión y distribución del ARNm, proteína y unión del receptor del péptido 1 similar al glucagón en el cerebro de primates no humanos macho (Macaca mulatta). *Endocrinología*. 2015;156(1):255–267.
19. Pyke C, et al. Localización del receptor de GLP-1 en tejido humano y de mono: nueva distribución revelada con anticuerpo monoclonal ampliamente validado. *Endocrinología*. 2014;155(4):1280–1290.
20. Corcho SC, et al. Distribución y caracterización de células que expresan el receptor del péptido 1 similar al glucagón en el cerebro de ratón. *Mol Metab*. 2015;4(10):718–731.
21. Merchenthaler I, et al. Distribución de ARN mensajeros del receptor pre-pro-glucagón y péptido similar al glucagón-1 en el sistema nervioso central de rata. *J Comp Neurol*. 1999;403(2):261–280.
22. Göke R, et al. Distribución de sitios de unión de GLP-1 en el cerebro de rata: evidencia de que la exendina-4 es un ligando de los sitios de unión de GLP-1 del cerebro. *Eur J Neurosci*. 1995;7(11): 2294–2300.
23. Anderberg RH, et al. El GLP-1 es a la vez ansiogénico y antidepresivo; Efectos divergentes del GLP-1 agudo y crónico sobre la emocionalidad. *Psiconeuroendocrinología*. 2016;65:54–66.
24. Hayes MR, et al. Papel del receptor péptido similar al glucagón 1 en el control del equilibrio energético. *Comportamiento fisiológico*. 2010;100(5):503–510.
25. Kenny PJ. Mecanismos celulares y moleculares comunes en la obesidad y la drogadicción. *Nat Rev Neurociencias*. 2011;12(11):638–651.
26. Dickson SL, et al. El análogo del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1), exendina-4, disminuye el valor gratificante de los alimentos: una nueva función de los receptores mesolímbicos de GLP-1. *J Neurosci*. 2012;32(14): 4812–4820.
27. Ghosal S, et al. La alteración de la señalización del péptido 1 similar al glucagón en las neuronas sim1 reduce la reactividad fisiológica y conductual al estrés agudo y crónico. *J Neurosci*. 2017;37(1):184–193.
28. Roberto M, et al. El papel de la amígdala central en la dependencia del alcohol. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2021;11(2):a039339.

29. Pfarr S, et al. Perder el control: exceso de alcohol que busca la inactivación selectiva de las neuronas que responden a señales en la corteza infralímbica. *J Neurosci*. 2015;35(30): 10750–10761 .
30. Koob GF. Drogadicción: hiperkatifeia/refuerzo negativo como marco para el desarrollo de medicamentos. *Farmacol Rev*. 2021;73(1):163–201 .
31. Khom S, et al. La dependencia del alcohol y la abstinencia alteran la regulación serotoninérgica de la transmisión de GABA en el núcleo central de la amígdala de la rata. *J Neurosci*. 2020;40(36): 6842–6853 .
32. Khom S, et al. La dependencia del alcohol potencia la señalización del receptor de sustancia P/neuroquinina-1 en el núcleo central de la amígdala de la rata. *Ciencia avanzada*. 2020;6(12):eaa21050.
33. Roberto M, et al. Aumento de la liberación de GABA en la amígdala central de ratas dependientes de etanol. *J Neurosci*. 2004;24(45): 10159–10166 .
34. Laque AG LDN, et al. Las neuronas anti-recada en la corteza infralímbica de ratas impulsan la supresión de recaídas mediante señales de omisión de drogas. *comuna nacional*. 2019;10(1):3934.
35. Flores-Ramírez FJ, et al. El bloqueo de los receptores de orexina en la corteza infralímbica previene el restablecimiento del comportamiento de búsqueda de alcohol inducido por el estrés en ratas dependientes del alcohol. *Br J Pharmacol*. 2023;180(11):1500–1515.
36. Patel RR, et al. Las adaptaciones inducidas por la abstinencia de etanol en las neuronas que expresan el receptor 1 del factor liberador de corticotropina prefrontal regulan la ansiedad y los efectos gratificantes condicionados del etanol. *Psiquiatría Mol*. 2022;27(8): 3441–3451 .
37. Varodayan FP, et al. El etanol crónico induce un cambio proinflamatorio en la regulación de la señalización GABAérgica por interleucina-1 $\beta$  en la corteza prefrontal medial de ratones macho. *Inmunización del comportamiento cerebral*. 2023;110:125–139.
38. Korol SV, et al. GLP-1 y exendina-4 mejoran transitoriamente las corrientes sinápticas y tónicas mediadas por el receptor GABAA en las neuronas piramidales CA3 del hipocampo de rata. *Diabetes*. 2015;64(1):79–89.
39. Rebois C, et al. Los receptores presinápticos de GLP-1 mejoran la liberación de glutamato y GABA provocada por la despolarización en la corteza y el hipocampo del ratón. *Biofactores*. 2018;44(2):148–157.
40. Fortin SM, et al. Las neuronas GABA en el núcleo del tracto solitario expresan receptores de GLP-1 y median los efectos anoréxicos de la liraglutida en ratas. *Ciencia Transl Med*. 2020;12(533):eaay8071.
41. Kieffer TJ, et al. Degradación del polipéptido insulínotropo dependiente de glucosa y del péptido 1 similar al glucagón truncado in vitro e in vivo por la dipeptidil peptidasa IV. *Endocrinología*. 1995;136(8): 3585–3596 .
42. Donnelly D. La estructura y función del receptor del péptido 1 similar al glucagón y sus ligandos. *Br J Pharmacol*. 2012;166(1):27–41.
43. Knudsen LB, Lau J. El descubrimiento y desarrollo de liraglutida y semaglutida. *Endocrinol frontal (lausana)*. 2019;10:155.
44. Marty VN, et al. Los agonistas del receptor del péptido 1 similar al glucagón de acción prolongada suprimen la ingesta voluntaria de alcohol en ratas wistar macho. *Neurociencias frontales*. 2020;14(1378):599646:599646.
45. O'Neil PM, et al. Eficacia y seguridad de semaglutida en comparación con liraglutida y placebo para la pérdida de peso en pacientes con obesidad: un ensayo de fase 2, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo y activo, con rango de dosis. *Lanceta*. 2018;392(10148):637–649.
46. Lingvay I, et al. La pérdida de peso superior con semaglutida una vez a la semana versus otros agonistas del receptor del péptido 1 similar al glucagón es independiente de los eventos adversos gastrointestinales. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2020;8(2):e001706.
47. Wilding JPH, et al. Semaglutida una vez a la semana en adultos con sobrepeso u obesidad. *N Engl J Med*. 2021;384(11):989.
48. Lau J, et al. Descubrimiento de la semaglutida, un análogo del péptido similar al glucagón-1 (GLP-1), que se administra una vez por semana. *J Med Chem*. 2015;58(18): 7370–7380 .
49. Jensen L, et al. Absorción, metabolismo y excreción del análogo de GLP-1 semaglutida en humanos y especies no clínicas. *Eur J Pharm Ciencias*. 2017;104:31–41.
50. Christou GA, et al. Semaglutida como fármaco prometedor contra la obesidad. *Obesidad Rev*. 2019;20(6):805–815.
51. Bucheit JD, et al. Semaglutida oral: una revisión del primer agonista oral del receptor del péptido 1 similar al glucagón. *Diabetes Technol Ther*. 2020;22(1):10–18.
52. Molina PE, Nelson S. Efectos del consumo excesivo de alcohol en el cuerpo. *Alcohol Res*. 2018;39(1):99–109.
53. Pérez-García JM, et al. Efectos del consumo excesivo de alcohol durante la adolescencia y la edad adulta emergente en el cerebro: una revisión sistemática de estudios de neuroimagen. *Neurosci Biobehav Rev*. 2022;137:104637.
54. Vendruscolo LF, Roberts AJ. Autoadministración operante de alcohol en ratas dependientes: centrándose en el modelo de vapor. *Alcohol*. 2014;48(3):277–286.
55. Volcko KL, et al. Control de la ingesta de agua por una vía desde el núcleo del tracto solitario hasta el núcleo hipotalámico paraventricular. *Apetito*. 2022;172:105943.
56. McKay Nueva Jersey, et al. El péptido 1 endógeno similar al glucagón reduce el comportamiento de beber y participa de manera diferente en la ingesta de agua y alimentos en ratas. *J Neurosci*. 2014;34(49): 16417–16423 .
57. McKay NJ, Daniels D. La administración de agonistas del receptor del péptido 1 similar al glucagón suprime la ingesta de agua y solución salina en ratas. *J neuroendocrinol*. 2013;25(10):929–938.
58. Gutzwiller JP, et al. El péptido 1 similar al glucagón participa en la homeostasis del sodio y el agua en humanos. *Digestión*. 2006;73(2-3):142–150.
59. Winzeler B, et al. Efectos de los agonistas del receptor del péptido 1 similar al glucagón sobre la ingesta de líquidos en voluntarios sanos. *Endocrino*. 2020;70(2):292–298.
60. Winzeler BF, et al. Los agonistas del receptor GLP1 reducen la ingesta de líquidos en la polidipsia primaria. *J Endocr Soc*. 2021;5(suplemento\_1):A514–A515.
61. Takai S, et al. El péptido 1 similar al glucagón participa específicamente en la transmisión del sabor dulce. *FASEB J*. 2015;29(6): 2268–2280 .
62. Martín B, et al. Modulación de la sensibilidad gustativa mediante la señalización de GLP-1 en las papilas gustativas. *Ann NY Acad Ciencias*. 2009;1170:98–101.
63. Kreuch D, et al. Mecanismos intestinales que vinculan la sensación de dulce intestinal con el control glucémico. *Endocrinol frontal (lausana)*. 2018;9:741:741.
64. Ohtsu Y, et al. Diversos sistemas de señalización activados por el receptor del sabor dulce en células secretoras de GLP-1 humanas. *Endocrinol de células mol*. 2014;394(1-2):70–79.
65. Barrera JG, et al. GLP-1 y balance energético: un modelo integrado de control a corto y largo plazo. *Endocrinol Rev Nacional*. 2011;7(9):507–516.
66. Velásquez DA, et al. Acciones centrales del GLP-1 sobre el metabolismo energético. *Horma de vitamina*. 2010;84:303–317.
67. Krieger JP, et al. Nuevo papel de la señalización del receptor GLP-1 en el gasto de energía durante la alimentación crónica con alto contenido de grasas en ratas. *Comportamiento fisiológico*. 2018;192:194–199.



68. Näslund E, et al. La ingesta de energía y el apetito son suprimidos por el péptido 1 similar al glucagón (GLP-1) en hombres obesos. *Trastorno metabólico relacionado con la obesidad internacional*. 1999;23(3):304–311.
69. Bergmann NC, et al. Semaglutida para el tratamiento del sobrepeso y la obesidad: una revisión. *Diabetes Obesidad Metab*. 2023;25(1):18–35.
70. Leggio L, et al. Papel de las vías relacionadas con la alimentación en la dependencia del alcohol: un enfoque en la preferencia por los dulces, el NPY y la grelina. *Alcohol Clin Exp Res*. 2011;35(2):194–202.
71. Cameron F, et al. Fentermina y topiramato de liberación prolongada (Qsymia™): primera aprobación mundial. *Drogas*. 2012;72(15):2033–2042.
72. Reus VI, et al. Guía de práctica de la Asociación Estadounidense de Psiquiatría para el tratamiento farmacológico de pacientes con trastorno por consumo de alcohol. *Am J Psiquiatría*. 2018;175(1):86–90.
73. Perry C, et al. El manejo de los trastornos por uso de sustancias: sinopsis de la Guía de práctica clínica del Departamento de Asuntos de Veteranos y del Departamento de Defensa de EE. UU. de 2021. *Ann Intern Med*. 2022;175(5):720–731.
74. Serafine KM, et al. Factores convergentes de vulnerabilidad al consumo compulsivo de alimentos y drogas. *Neurofarmacología*. 2021;196:108556.
75. Traversy G, Chaput JP. Consumo de alcohol y obesidad: una actualización. *Representante Curr Obes*. 2015;4(1):122–130.
76. Mahli A, Hellerbrand C. Alcohol y obesidad: una asociación peligrosa para la enfermedad del hígado graso. *cavar dis*. 2016;34 Suplemento 1:32–39.
77. Piano Sr. Efectos del alcohol sobre el sistema cardiovascular. *Alcohol Res*. 2017;38(2):219–241.
78. Thiele TE, et al. La infusión central de GLP-1, pero no de leptina, produce aversiones gustativas condicionadas en ratas. *Am J Physiol*. 1997;272(2):R726–R730.
79. Kinzig KP, et al. Las diversas funciones de los receptores GLP-1 específicos en el control de la ingesta de alimentos y la respuesta a las enfermedades viscerales. *J Neurosci*. 2002;22(23): 10470–10476.
80. Costa A, et al. Los efectos anoréxicos y aversivos del agonismo del receptor GLP-1 están mediados por neuronas de colecistoquinina del tronco encefálico y modulados por la activación del receptor GIP. *Mol Metab*. 2022;55:101407.
81. Kanoski SE, et al. El papel de las náuseas en la ingesta de alimentos y la supresión del peso corporal por parte de los agonistas del receptor periférico de GLP-1, la exendina-4 y la liraglutida. *Neurofarmacología*. 2012;62(5):1916–1927.
82. Scott KA, Moran TH. El agonista de GLP-1 exendina-4 reduce la ingesta de alimentos en primates no humanos mediante cambios en el tamaño de las comidas. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007;293(3):R983–R987.
83. Thomsen M, et al. Efectos de los análogos del péptido 1 similar al glucagón sobre la ingesta de alcohol en monos verdes que prefieren el alcohol. *Psicofarmacología*. 2019;236(2):603–611.
84. Ghidewon M, et al. El factor de diferenciación de crecimiento 15 (GDF15) y la semaglutida inhiben la ingesta de alimentos y el peso corporal a través de mecanismos aditivos en gran medida distintos. *Diabetes Obesidad Metab*. 2022;24(6):1010–1020.
85. Dossat AM, et al. Los receptores del péptido 1 similar al glucagón en el núcleo accumbens afectan la ingesta de alimentos. *J Neurosci*. 2011;31(41): 14453–14457.
86. Alhadeff AL, et al. Las neuronas GLP-1 en el núcleo del tracto solitario se proyectan directamente al área tegmental ventral y al núcleo accumbens para controlar la ingesta de alimentos. *Endocrinología*. 2012;153(2):647–658.
87. Richard JE, et al. La activación de los receptores GLP-1 en el núcleo del tracto solitario reduce el comportamiento de recompensa alimentaria y se dirige al sistema mesolímbico. *Más uno*. 2015;10(3):e0119034.
88. Hayes MR, Schmidt HD. El GLP-1 influye en la recompensa de alimentos y medicamentos. *Ciencia del Comportamiento de Opinión Curr*. 2016;9:66–70.
89. Egecioglu E, et al. El análogo del péptido 1 similar al glucagón, Exendina-4, atenúa los comportamientos mediados por el alcohol en roedores. *Psiconeuroendocrinología*. 2013;38(8):1259–1270.
90. Shirazi RH, et al. El péptido intestinal GLP-1 y su análogo, Exendina-4, disminuyen la ingesta de alcohol y la recompensa. *Más uno*. 2013;8(4):e61965.
91. Schmidt HD, et al. La activación del receptor del péptido 1 similar al glucagón en el área tegmental ventral disminuye la eficacia reforzadora de la cocaína. *Neuropsicofarmacología*. 2016;41(7):1917–1928.
92. Wang XF, et al. El péptido 1 endógeno similar al glucagón suprime la ingesta de alimentos ricos en grasas al reducir el impulso sináptico sobre las neuronas dopaminérgicas mesolímbicas. *Representante celular*. 2015;12(5):726–733.
93. Fortin SM, Roitman MF. La activación del receptor central GLP-1 modula la señalización de dopamina fásica provocada por la cocaína en el núcleo accumbens. *Comportamiento fisiológico*. 2017;176:17–25.
94. Hernández NS, et al. La activación del receptor del péptido 1 similar al glucagón en el área tegmental ventral atenúa la búsqueda de cocaína en ratas. *Neuropsicofarmacología*. 2018;43(10):2000–2008.
95. Vallöf D, et al. Los receptores del péptido 1 similar al glucagón específicos de la región del cerebro regulan los comportamientos inducidos por el alcohol en roedores. *Psiconeuroendocrinología*. 2019;103:284–295.
96. Colvin KJ, et al. Efectos inhibidores específicos del sitio cerebral del análogo de GLP-1 exendina-4 sobre la ingesta de alcohol y la respuesta operante a los alimentos sabrosos. *Int J Mol Ciencia*. 2020;21(24):9710.
97. Dixon TN, et al. La señalización del receptor del péptido 1 similar al glucagón en el área tegmental ventral reduce la autoadministración de alcohol en ratas macho. *Alcohol Clin Exp Res*. 2020;44(10): 2118–2129.
98. Wharton S, et al. Tolerabilidad gastrointestinal de 2,4 mg de semaglutida una vez a la semana en adultos con sobrepeso u obesidad, y relación entre los eventos adversos gastrointestinales y la pérdida de peso. *Diabetes, Obesidad y Metabolismo*. 2022;24(1):94–105.
99. Falk DE, et al. Evaluación de los niveles de riesgo de consumo de alcohol como resultados en ensayos de farmacoterapia contra el alcohol: un análisis secundario de 3 ensayos clínicos aleatorios. *Psiquiatría JAMA*. 2019;76(4):374–381.
100. Hasin DS, et al. Cambio en los niveles de riesgo de consumo de alcohol y dependencia del alcohol de la OMS no abstinentes: un estudio de seguimiento de 3 años en la población general de EE. UU. *Psiquiatría de Lanceta*. 2017;4(6):469–476.
101. Khom S, et al. La dependencia del alcohol y la abstinencia aumentan la sensibilidad de las sinapsis GABAérgicas de la amígdala central al antagonista del receptor de glucocorticoides mifepristona en ratas macho. *NeurobiolDis*. 2022;164:105610.
102. Vendruscolo LF, et al. El antagonismo de los receptores de glucocorticoides disminuye la búsqueda de alcohol en individuos dependientes del alcohol. *J Clin Invest*. 2015;125(8): 3193–3197.
103. He Z, et al. Efectos directos e indirectos de la liraglutida sobre las neuronas hipotalámicas POMC y NPY/AgRP: implicaciones para el equilibrio energético y el control de la glucosa. *Mol Metab*. 2019;28:120–134.
104. Babateen O, et al. La liraglutida modula la señalización GABAérgica en las neuronas piramidales CA3 del hipocampo de rata predominantemente mediante un mecanismo presináptico. *BMC Pharmacol Toxicol*. 2017;18(1):83.

105. Korol SV, et al. El agonista del receptor GLP-1 exendina-4 y el diazepam regulan diferencialmente las corrientes tónicas mediadas por el receptor GABAA en las neuronas piramidales CA3 del hipocampo de rata. *Más uno*. 2015;10(4):e0124765.
106. Doyle ME, Egan JM. Mecanismos de acción del péptido 1 similar al glucagón en el páncreas. *Farmacol Ther*. 2007;113(3):546–593.
107. Lønsmann I, Bak LK. Papel potencial de los complejos de señalización de adenilil ciclasa 8 en la regulación de la secreción de insulina de las células beta pancreáticas. *Señal celular*. 2020;72:109635.
108. Augier E, et al. Un mecanismo molecular para elegir el alcohol en lugar de una recompensa alternativa. *Ciencia*. 2018;360(6395):1321–1326.
109. Jiménez VA, et al. Adaptaciones sinápticas en la amígdala central y el núcleo paraventricular hipotalámico asociadas con la abstinencia prolongada de etanol en monos rhesus macho. *Neuropsicofarmacología*. 2019;44(5):982–993.
110. Bajo M, et al. Los factores inmunes innatos modulan la interacción del etanol con la transmisión GABAérgica en la amígdala central del ratón. *Inmunización del comportamiento cerebral*. 2014;40:191–202.
111. Roberto M, et al. Interacciones celulares y conductuales de gabapentina con dependencia del alcohol. *J Neurosci*. 2008;28(22): 5762–5771 .
112. Leggio L, et al. Tipologías de dependencia del alcohol. De Jellinek a la genética y más allá. *Neuropsicol Rev*. 2009;19(1):115–129.
113. Klausen MK, et al. Exenatida una vez por semana para el trastorno por consumo de alcohol investigado en un ensayo clínico aleatorizado controlado con placebo. *Perspectiva de la JCI*. 2022;7(19):e159863.
114. Wium-Andersen IK, et al. Uso de agonistas del receptor GLP-1 y riesgo posterior de eventos relacionados con el alcohol. Un estudio de serie de casos autocontrolado y de cohorte basado en registros a nivel nacional. *Toxicol básico de Clin Pharmacol*. 2022;131(5):372–379.
115. Farokhnia M, et al. El sistema del péptido 1 similar al glucagón está modulado por la exposición aguda y crónica al alcohol: hallazgos de experimentos de laboratorio en humanos y un estudio cerebral post-mortem. *Biol adicto*. 2022;27(5):e13211.
116. Suchankova P, et al. El receptor del péptido 1 similar al glucagón como posible objetivo de tratamiento en el trastorno por consumo de alcohol: evidencia de estudios de asociación genética humana y un modelo de dependencia del alcohol en ratones. *Psiquiatría transl*. 2015;5(6):e583.
117. Farokhnia M, et al. Asociación diferencial entre las variantes del gen GLP1R y la conectividad funcional cerebral según la gravedad del consumo de alcohol. *Representante de ciencia*. 2022;12(1):13027.
118. O'Sullivan SJ, et al. Expresión de genes neuronales y gliales a escala unicelular y fenotipos y redes celulares putativos en el núcleo del tracto solitario en una serie temporal de abstinencia de alcohol. *Neurología del sistema frontal*. 2021;15:739790.
119. Rodas JS, et al. Evaluación de un modelo simple de consumo de etanol hasta la intoxicación en ratones C57BL/6J. *Comportamiento fisiológico*. 2005;84(1):53–63.
120. Farokhnia M, et al. La espirolactona como posible nueva farmacoterapia para el trastorno por consumo de alcohol: evidencia convergente de estudios en roedores y humanos. *Psiquiatría Mol*. 2022;27(11): 4642–4652 .
121. Hefner K, Holmes A. Una investigación de las acciones conductuales del etanol durante la adolescencia en ratones. *Psicofarmacología (Berl)*. 2007;191(2):311–322.
122. Ji D, et al. Efectos de la naltrexona, la duloxetina y un antagonista del receptor tipo 1 del factor liberador de corticotropina sobre el consumo excesivo de alcohol en ratas. *Farmacéutica de comportamiento*. 2008;19(1):1–12.
123. Zallar LJ, et al. La eliminación del receptor de grelina reduce el consumo excesivo de alcohol en ratas. *J neuroendocrinol*. 2019;31(7):e12663.
124. McGinn MA, et al. Los moduladores de los receptores de glucocorticoides disminuyen la autoadministración de alcohol en ratas macho. *Neurofarmacología*. 2021;188:108510.
125. Chieng BC, et al. Caracterización de neuronas en el núcleo central de la amígdala de rata: fisiología celular, morfología y sensibilidad a los opioides. *J Comp Neurol*. 2006;497(6):910–927.
126. Gabery S, et al. La semaglutida reduce el peso corporal en roedores a través de vías neuronales distribuidas. *Perspectiva de la JCI*. 2020;5(6):e133429.